

Etude expérimentale de la dénitrification in situ en eaux courantes : application à la rivière Charente

M. Torre¹
J.-P. Rebillard¹
H. Ayphassorho¹
L. Labroue²
C. Helmer²

Mots clés : dénitrification, activité bactérienne, sédiment, nitrates, rivière, méthodologie.

L'expérimentation, menée au cours d'un cycle annuel sur deux secteurs différents de la rivière Charente à l'aval d'Angoulême, a pour objectif de quantifier le taux de dénitrification pour les besoins d'un modèle hydrologique nitrates.

La méthode de blocage du stade final de la réaction de dénitrification à l'acétylène a permis le dosage du protoxyde d'azote à partir de cloches à sédiment et d'un conteneur immergé en pleine eau.

Les résultats montrent que, si ce phénomène n'a pas lieu dans la tranche d'eau, la vitesse de dénitrification à l'interface eau-sédiment, facteur K exprimé en mg de nitrates dénitrifiés par m³ par jour, peut être considérée comme constante et indépendante des variations en température, en teneurs en nitrates et oxygène dissous de l'interface.

Sur un cycle annuel, en l'absence d'influence marquée des paramètres environnementaux, le taux moyen de dénitrification dans la rivière Charente est de 682 mg de NO₃⁻ / m³ / j.

La comparaison des mesures obtenues par cette méthode à celles évaluées par le calcul (bilan azoté) montre qu'il est préférable d'estimer le taux de dénitrification par dosage direct plutôt qu'à partir de l'analyse des formes de l'azote (disparition du NO₃⁻ ou défaut du bilan).

In situ assessment of denitrification in running waters : example of the Charente river

Keywords : denitrification, bacterial activity, sediment, nitrate, river, methodology

The experiment lasted one year at two stations of the Charente river, downstream from Angoulême. The aim of this study was to quantify the denitrification rate and to insert it in a nitrate hydrological model. We used four benthic chambers located on the sediment and a submerged 20 litre bottle in the water.

The nitrous oxide determination, after acetylene inhibition of its reduction, was made by GPC. We observed no N₂O production in the water. The denitrification rate, expressed as mg of nitrates. M⁻². d⁻¹, can be considered as a constant and is independent of the temperature variation, nitrate and dissolved oxygen concentrations of the sediment-water system.

On a annual cycle, without the marked influence of environmental factors, the mean rate of denitrification in the river Charente is about 682 mg.m⁻². d⁻¹.

The comparison of the field measurements and evaluation by calculation of the denitrification phenomenon shows that it is preferable to estimate the denitrification rate by direct titration instead of nitrogen form analysis.

Introduction

Le développement des différents secteurs économiques utilisateurs concurrentiels d'eau, notamment l'industrie, la distribution publique d'eau potable,

le tourisme, l'agriculture, a considérablement compliqué la gestion des eaux continentales. Dans le cas de la rivière Charente, cette difficulté est encore plus sensible puisque l'aménagement des eaux continentales a un impact direct sur le milieu marin et les activités qui lui sont associées, principalement la conchyliculture. Drainant un bassin versant d'une superficie voisine de 10 000 km², la Charente reçoit, outre la fraction non épurée des rejets urbains et industriels, les pollutions diffuses liées aux pratiques agricoles intensives.

1. Cemagref, Groupement de Bordeaux, Division Qualité des Eaux, F-33610 Gazinet.

2. Laboratoire d'Hydrobiologie, URA 695 CNRS, Université Paul Sabatier, 118, route de Narbonne, F-31062 Toulouse Cedex.

C'est ainsi que, dans les vingt dernières années, les concentrations en nitrates y ont plus que doublé.

Afin d'évaluer les risques de compétitions entre activités utilisatrices d'eau et les atteintes à l'environnement, un programme d'étude financé par le Ministère de la Recherche a été lancé pour établir un outil rationnel de gestion de la ressource en eau. Compte tenu de l'importance de l'azote dans les processus d'eutrophisation, l'établissement d'un modèle numérique de transfert des nitrates (Ma 1991) est apparu essentiel pour une simulation et une précision des flux.

Au sein du cycle de l'azote, intervient un processus qui est à considérer avec attention puisqu'il conduit à une perte nette d'azote pour le milieu aquatique : il s'agit de la dénitrification au niveau de l'interface eau/sédiment et, dans des conditions particulières, dans la masse d'eau. La réduction des nitrates est assurée, en anaérobiose, par des populations bactériennes très variées grâce à deux mécanismes dissimilaires : réduction en NH_4^+ par des microorganismes anaérobies ou facultatifs et dénitrification par des germes aérobies capables de se développer en anaérobiose en présence de nitrates ou de nitrites (Painter 1977, Gorlenko et al. 1983, Tiedje 1988).

La dénitrification dépend principalement de la concentration en O_2 dissous et moins strictement de la teneur en nitrates et en matière organique facilement dégradable et de la température (Knowles 1982, Seitzinger 1988). Les deux systèmes enzymatiques qui régissent la dénitrification réagissent différemment au taux d'oxygène dissous : la synthèse des nitrates-réductases (NaR) est déclenchée par une chute régulière de la teneur en O_2 dissous ou en conditions semi-anaérobies. Par contre, celle des nitrites-réductases (NiR) est fortement réprimée par la présence d' O_2 . Dans les eaux douces, la réaction nécessite une concentration en O_2 dissous inférieure à 0,2 mg/l et se trouve encore efficace pour des concentrations en NO_3^- faibles (10 $\mu\text{g N-NO}_3^-/\text{l}$). Cependant, on constate que jusqu'à 2 mg d' O_2/l d'eau, l'activité dénitrifiante n'est pas inhibée mais seulement réduite et qu'elle se poursuit même à des concentrations de 6 à 8 mg d' O_2/l .

L'interface eau-sédiment représente une zone d'échanges très active. Dans les eaux oxygénées, c'est le taux de diffusion des nitrates (nitrification et apports de la colonne d'eau) dans l'épaisseur des

sédiments qui détermine l'activité dénitrifiante. Au niveau des sites de production des nitrates, le déficit local en O_2 dissous entraîne la mobilité de l'interface aéro-anaérobie (Tiedje 1982). En conditions « normales », la dénitrification dans la colonne d'eau est peu active, voire inexistante.

La quantification de cette réaction de dénitrification au niveau de la Charente est indispensable au bon fonctionnement du modèle « nitrates ». Elle permet de s'affranchir des valeurs tirées de la littérature (Toms 1975, Whitehead 1984) et généralement admises sans vérification. La grande majorité des travaux réalisés dans ce domaine met en œuvre des techniques issues de la microbiologie des sols et concerne des expérimentations soit en laboratoire, soit in situ, principalement en eaux douces stagnantes (lacs, gravières) et en milieu marin.

Nous décrivons ici une expérimentation menée in situ en eau courante à l'aide de cloches à sédiment.

1. Matériel et méthode

1.1. Sites d'intervention

L'étude de la dénitrification a été conduite durant un cycle annuel sur la rivière Charente à l'aval de l'agglomération d'Angoulême (région Poitou-Charente, centre ouest de la France). Deux sites expérimentaux ont été retenus :

- le bief de Nersac, caractérisé par une tranche d'eau moyenne de 3 à 4 m et un fonds de graviers et cailloux associés à des trous vaseux. La colonisation par les macrophytes y est importante d'avril à novembre et un flocc mobile de couleur brune tapisse le sédiment.

- le bief de Juac, caractérisé par une tranche d'eau comprise entre 1,5 et 2 m et un sédiment brun-noir, sableux, avec des débris organiques. Le courant y est faible et les macrophytes peu abondants du fait d'un couvert végétal rivulaire important.

La présente communication fait état des résultats obtenus sur neuf campagnes de mesures effectuées de mai 1991 à avril 1992 sur les sédiments et en pleine eau.

1.2. Matériel utilisé

Quatre cloches benthiques ont été réalisées dans du tube PVC de 30 cm de diamètre (730 cm^2 de surface couverte) d'après le modèle utilisé en gravières par Labroue et al. (1988).

Deux tubulures apicales permettent, grâce à une pompe péristaltique située en surface, l'homogénéisation de la masse d'eau contenue dans chaque cloche (15 litres) ainsi que toutes les opérations d'injection et de prélèvement. Une des cloches comporte un orifice à joint torique permettant l'introduction d'une sonde oxyométrique.

Sur chaque site, les quatre cloches à sédiment ont été immergées et disposées sur le fond selon un carré d'une dizaine de mètres de côté par un plongeur. L'utilisation de ces quatre systèmes permet la prise en compte de la variabilité des mesures et de l'hétérogénéité des sédiments. Un conteneur de 20 l d'eau de rivière immergé à mi-profondeur a servi à la mesure de la dénitrification en pleine eau.

1.3. Techniques analytiques

Nous avons appliqué la méthode de dosage du protoxyde d'azote (N_2O) après blocage du stade final de la réaction de dénitrification par l'acétylène. Cette méthode rend compte d'une quantité d'enzymes actives plutôt que d'une densité de population bactérienne. C'est une mesure de l'activité d'un ensemble de microorganismes différents possédant une fonction en commun.

Une fois le matériel mis en place sur le fond et le raccordement des tuyaux souples effectué avec la surface, 1500 ml de C_2H_2 sont injectés dans chaque enceinte (10 % du volume). Après 10 mn de brassage par circulation d'eau à l'aide de la pompe de surface, ce qui assure la diffusion de C_2H_2 dans la couche superficielle de sédiment ou dans la masse d'eau, un premier prélèvement est effectué au temps t_0 (6.5 ml de liquide homogénéisé sont aspirés à la seringue et réinjectés dans des cubes à vides Vénoject de 13 ml de volume total) et cinq prélèvements horaires successifs sont réalisés de la même manière (t_1 à t_5). Les tubes d'échantillons sont ensuite stockés en glacières en vue d'analyse. Un protocole identique a été appliqué au conteneur de 20 l.

L'évolution de la physicochimie des eaux des enceintes est suivie par enregistrements en continu de la consommation en O_2 dissous et de la température et par prélèvements aux temps t_0 et t_5 d'échantillons destinés à l'analyse systématique des nitrates. Pour certaines campagnes, l'analyse complémentaire des NO_2^- , NH_4^+ et azote total Kjeldahl a été réalisée.

Pour le dosage du N_2O en laboratoire, les prélèvements en tubes Vénoject, conservés jusqu'à 7 jours

sans modification, sont mis à température ambiante. Ces tubes, encore sous léger vide, sont percés pour être mis en équilibre avec l'atmosphère. Après agitation, 200 μ l de gaz sont prélevés et injectés dans un chromatographe en phase gazeuse, détecteur à capture d'électrons (Delsi Série 30). Cet appareil est équipé d'un système back-flush qui évite d'envoyer l'acétylène sur le détecteur et d'une alimentation pulsée variable selon la concentration (entre 0,3 et 150 ppm). Le gaz vecteur utilisé est un mélange argon-méthane (95/5) améliorant la sensibilité. L'obtention de pics hauts et étroits autorise la seule prise en compte de leur hauteur sans intégration des surfaces sous la courbe. Un étalonnage préalable à l'air (0,3 ppm) et par gaz étalon (25, 50 et 100 ppm) permet d'obtenir directement les valeurs xi en ppm de N_2O de la phase gazeuse de l'échantillon.

Connaissant le coefficient de solubilité de N_2O dans l'eau, on évalue par simple calcul la concentration initiale totale en N_2O de chaque échantillon (Tableau 1). Pour chacune des cloches, la courbe des concentrations en N_2O en fonction du temps traduit la cinétique de la réaction. En éliminant le début de courbe qui correspond au temps nécessaire à la diffusion de C_2H_2 et la fin de courbe qui traduit une modification des réactions dans les cloches (C_2H_2 transformé, effet de confinement bien marqué au bout de 6 heures), nous retenons la pente moyenne de la courbe et donc deux concentrations x de N_2O en fonction du temps. Cela permet d'exprimer une production moyenne de N_2O en μ g/m³/h qui sera égale à $(\Delta x * \text{volume enceinte}) / (\text{surface enceinte} * \text{temps})$, avec Δx en ppm (μ g/l d'eau), volume de l'enceinte en litre, surface de l'enceinte en m² et temps en heure.

2. Résultats et discussion

2.1. Production de protoxyde d'azote dans les enceintes

Pour chacun des deux sites et pour chacune des neuf expérimentations, nous disposons de quatre valeurs de production moyenne de N_2O exprimées en μ g/m³/h ainsi que d'une série d'analyses de paramètres physicochimiques de l'eau en fonction du temps d'expérimentation (formes de l'azote, O_2 dissous, température). La production moyenne de N_2O est calculée par moyenne arithmétique des quatre valeurs issues des mesures de terrain. Le tableau 2 présente cette production moyenne et son équivalence en quantité de nitrates dénitrifiés pour chacun des sites.

Tableau 1. Mode de calcul de la concentration initiale en N₂O dans l'eau.Table 1. Calculation method of N₂O initial concentration in water.

La quantité totale de protoxyde d'azote présente sous forme gazeuse dans un tube Vénoject sera la somme de la fraction déjà présente dans le vénoject (à sa mise sous vide), de la fraction provenant de l'échantillon (Gi) et de la fraction introduite à l'équilibration avec l'atmosphère lors de la mesure.

soit xi = quantité de N₂O en ppm volume (µl/l) de la fraction gazeuse de l'échantillon

La constante d'équilibre de N₂O entre phase gazeuse et phase aqueuse est :

$K_0 = 2,7 \cdot 10^{-2} \text{ mole} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{atm}^{-1}$ à 22°C.

1 mole N₂O = 44 g pour 22,4 l soit une densité de 1,964. Dans l'eau, nous aurons $44 \cdot K_0 = 1,188$

Avec une constante de répartition eau-air = 1,188/1,964 = 0,6 (rapport en masse), la teneur globale en N₂O (phase gazeuse Gi et phase aqueuse Li) de l'échantillon est :

$(xi \cdot 1,964 \cdot \text{Vair en ml}) + (xi \cdot 1,964 \cdot 0,6 \cdot \text{Veau en ml}) - (\text{Vair en ml} \cdot 1,964 \cdot 0,3)^a - (0,470 \cdot \text{Vvénoject en ml})^b$

a : N₂O en µg introduit par équilibration dans le vénoject soit $x \cdot 10^{-3} \text{ µg/l}$

b : N₂O en µg présent dans un vénoject de 13 ml soit $y \cdot 10^{-3} \text{ µg/l}$

Les Vénojects utilisés ont un volume de 13 ml soit 6,5 ml air et 6,5 ml eau (échantillon prélevé).

La teneur initiale en N₂O dans l'eau exprimée en µg/l est :

$x = [(xi \cdot 12,77) + (xi \cdot 7,66) - 3,83 - 6,11] / 6,5$ soit $x = 3,14 \text{ xi} - 1,53$

Tableau 2. Taux horaire moyen de dénitrification exprimé en N₂O produit et en NO₃⁻ dénitrifié.Table 2. Hourly mean denitrification rate expressed in N₂O produced and NO₃⁻ denitrified.

	5/1991	6/1991	7/1991	8/1991	9/1991	10/1991	11/1991	3/1992	4/1992
Nersac									
µmol N ₂ O/m ² /h	122	186	333	169	219	166	238	175	156
mg NO ₃ /m ² /h	15,1	23,1	41,3	20,9	27,2	20,6	29,5	21,7	19,4
Juac									
µmol N ₂ O/m ² /h	834	610	284	80	118	79	37	123	198
mg NO ₃ /m ² /h	103,4	75,6	35,2	9,9	14,6	9,8	4,6	15,2	24,6

Une analyse de variance regroupe les 18 valeurs obtenues sur les neuf campagnes et les deux sites en une même population et n'indique aucune différence significative au seuil de 1 % entre les types de sédiments et entre les variations dans le temps (Tableau 3).

Les nitrates jouent le rôle d'inducteur de réductase, le taux de dénitrification devrait être corrélé positivement à leur concentration, surtout si celle-ci est faible (faibles Km des réductases). Aucune liaison évidente n'est établie ici entre les données

physicochimiques (NO₃⁻, O₂, température) et la production de N₂O dans le temps.

Ainsi, dans les conditions de l'expérience, cette production serait donc peu ou pas dépendante de la nature des sédiments et de l'évolution des paramètres physico-chimiques des eaux.

Les figures 1 et 2 représentent les cinétiques d'évolution des nitrates : les nitrates disparus sont soit dénitrifiés et donc perdus pour le système, soit assimilés et donc recyclés dans le système. Pour le site de Nersac, le taux moyen de dénitrification (facteur K) est de 24 mg de NO₃⁻ dénitrifié/m²/h. Pour celui de Juac, il est de 32 mg (les deux premières valeurs semblent surestimées du fait d'un positionnement probablement trop profond des cloches dans le sédiment). Ces valeurs variant dans une gamme réduite (à l'intérieur d'une unité logarithmique), la valeur globale moyenne retenue sera donc la moyenne de ces deux taux (cf § 2.3).

Tableau 3. Analyse statistique des données de dénitrification.

Table 3. Statistical analysis of denitrification data.

Source de variation	Dispersion	Degré de liberté	Variance	F
Factorielle				
- Espace	50736022	1	50736022	0.72
- Temps	567566788	8	70945848	0.81
Résiduelle				
	699718644	8	87464830	

Fig. 1. Evolution du taux de disparition des nitrates et de l'activité dénitrifiante à la station de Nersac sur un cycle annuel.

Fig. 1. Evolution of nitrate rate removal and denitrifying activity during a one year cycle at Nersac station.

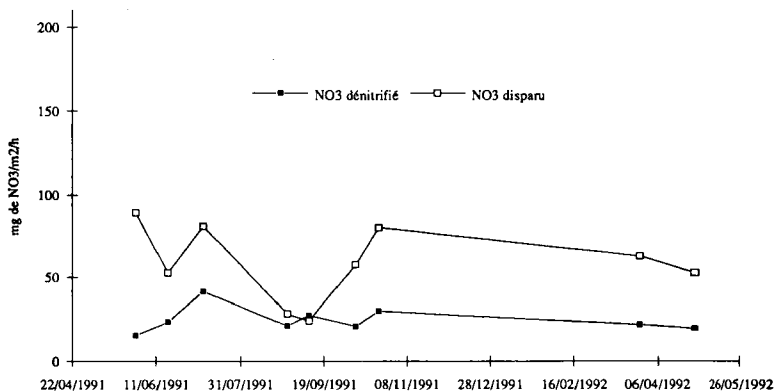
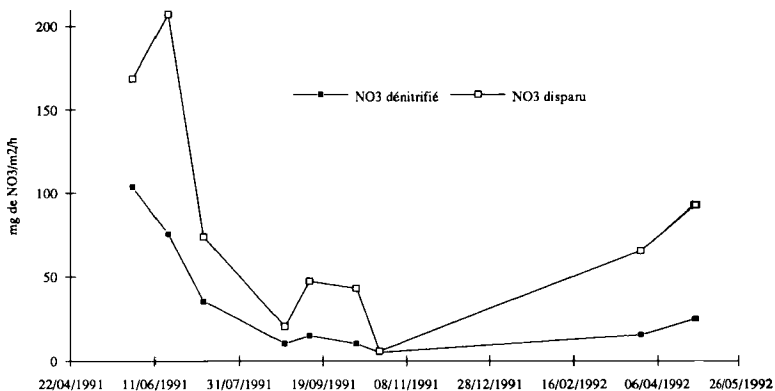


Fig. 2. Evolution du taux de disparition des nitrates et de l'activité dénitrifiante à la station de Juac sur un cycle annuel.

Fig. 2. Evolution of nitrate rate removal and denitrifying activity during a one year cycle at Juac station.



Nous avons pu vérifier l'absence d'accumulation de N_2O dans l'eau des enceintes au cours de trois manipulations sans injection d'acétylène : les nitrates à une concentration inférieure à 25 mg/l d'eau n'inhibent pas la réduction du N_2O . Aux fortes concentrations en NO_3^- , la diffusion des nitrates vers les microsites anaérobies augmente. Il y a alors inhibition de la réduction du NO et donc accumulation de NO_2^- et par là même inhibition de la réduction de N_2O de sorte que le rapport N_2O/N_2 augmente (Labroue et al. 1991).

Nous constatons aussi l'absence de production de N_2O dans la colonne d'eau : les prélèvements réalisés montrent une teneur en N_2O constante pendant 6 heures et identique à celles des t_0 correspondant aux cloches benthiques.

2.2. Evolution des formes de l'azote

Dans ces eaux en général bien oxygénées et en l'absence d'inhibition par l'acétylène, les nitrates sont formés dans les microzones oxydées du sédiment et proviennent de l'oxydation de l'ammoniaque relargué in situ et par les zones anaérobies inférieures. Selon le potentiel d'oxydoréduction de l'interface, les populations bactériennes interviennent d'une manière différente dans les réactions conduisant à la disparition des nitrates (réduction ou dénitrification). Lorsque la dénitrification est effective, c'est la source de NO_3^- immédiatement disponible qui sera utilisée (nitrates produits dans l'interface ou nitrates diffusés depuis la colonne d'eau).

En règle générale, l'activité dénitrifiante mesurée est souvent inférieure à l'activité réelle car l'utilisation de C_2H_2 inhibe la nitrification. De plus, dans le cas d'une diffusion partielle de l'acétylène dans

le sédiment, le blocage de la réduction de N_2O est limité. Il en est ainsi lorsque la zone de dénitrification est éloignée de la surface du sédiment ou lorsque, pour de faibles concentrations en nitrates dans les eaux et les sédiments, les réactions nitrification-dénitrification sont couplées.

Dans notre expérimentation, la chute régulière mais faible de la teneur en O_2 dissous dans les enceintes ne semble stimuler que modérément l'activité dénitrifiante. Par contre, l'action de C_2H_2 sur la nitrification limite les sources de NO_3^- disponibles. La colonne d'eau représente la principale source de nitrates si le taux de dénitrification reste du même ordre de grandeur que le taux de disparition des nitrates dans l'eau.

Le tableau 4 montre que, comme prévu, la mesure directe (production de protoxyde d'azote par unité de temps) est inférieure au taux de disparition des nitrates de l'eau. Cela s'explique par une disparition d'une partie de ces nitrates probablement due à la consommation (assimilation) et à la réduction non assimilative en NH_4^+ . Nous observons bien une légère augmentation de l'azote ammoniacal en cinq heures. Le reste (en moyenne 36 % des nitrates disparus du système) est dénitrifié.

L'estimation de la dénitrification par la méthode des bilans présuppose que la masse d'eau dans les cloches benthiques est un système isolé (en particulier, pas d'échanges eau-sédiment). Le bilan se fera par rapport aux dosages des formes d'azote (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , NK). Les taux d'évolution horaire des formes de l'azote dans les cloches ne permettent pas d'équilibrer une balance des formes azotées. Nous avons ramené ces valeurs en pourcentage de l'azote total et calculé les valeurs de $N-N_2O$ théoriques nécessaires pour avoir un système conservatif.

Tableau 4. Consommation de nitrates et production de N_2O dans les enceintes.

Table 4. Nitrate consumption and N_2O production in benthic chambers.

	7/1991	8/1991	9/1991	10/1991	11/1991
Nersac					
N- NO_3 $\mu g/l/h$	91	29	30	63	88
N- N_2O $\mu g/l/h$	45	23	30	23	32
Juac					
N- NO_3 $\mu g/l/h$	93	23	56	47	6
N- N_2O $\mu g/l/h$	39	11	16	11	5

Dans le tableau 5, la comparaison des taux horaires de protoxyde d'azote mesurés (données expérimentales) et calculés (défaut de bilan) montre que, si les 2 séries de valeurs sont voisines, les taux issus des mesures de terrain sont plus faibles.

L'azote total devrait être conservé entre t_0 et t_5 puisqu'on suppose que rien ne s'échappe du système. Les différences observées (avec ΣN à $t_5 < \Sigma N$ à t_0) ont pour cause probable les erreurs de dosage sur l'azote organique qui est de plus difficile à doser. Les précisions des dosages sont de $\pm 0,1$ mg/l pour NO_3^- et pour N organique. Les variations en concentrations sont très faibles sur cinq heures d'expérimentation et les erreurs sur les dosages s'additionnant, les calculs des taux horaires seront entachés d'une erreur d'autant plus importante que ces variations entre t_0 et t_5 seront plus faibles. Ainsi, une variation de $-4,59\%$ par heure d'azote organique correspondra à une dénitrification calculée énorme.

Un mauvais positionnement de l'enceinte peut entraîner une remise en suspension des sédiments : c'est le cas à Juac en août 1991 où l'on observe une augmentation de l'azote organique et ammoniacal d'où une perte apparente (consommation) de N_2O très importante ($-5,87\%$) tout à fait irréaliste. Dans ce cas, les échantillons d'eau étaient anormalement chargés de matières en suspension.

La méthode des bilans semble donc peu fiable et incapable de rendre compte de l'activité dénitrifiante. N'ayant accès qu'à la masse d'eau des cloches, on ignore ce qui se passe dans les sédiments. Sur l'ensemble des échanges entre l'eau, l'interface et le sédiment actif, les réactions biochimiques de

faible intensité se déroulant sur un temps très court ne sont pas traduites. Cela s'ajoute au déficit inhérent au principe même de la mesure (confinement dans les enceintes et l'effet de l'acétylène).

En revanche, la mesure directe, elle, ne fait intervenir qu'un seul paramètre (N_2O).

2.3. Taux de disparition des nitrates K

L'évaluation d'un taux de disparition des nitrates K conduit à formuler des hypothèses simplificatrices (déjà précédemment admises) : la vitesse de dénitrification à l'interface eau/sédiment est constante par unité de surface et ne dépend ni de la concentration en NO_3^- de l'eau, ni de la température, ni de la nature plus ou moins organique du sédiment. La dénitrification dans la masse d'eau est toujours nulle.

Pour être incorporée dans le modèle général « NO_3^- Charente », cette information doit être exprimée sous la forme d'une variation de la concentration en nitrates dans l'eau en fonction de la constante « taux de dénitrification ».

Pour ce faire, nous considérons une tranche d'eau élémentaire verticale perpendiculaire à l'axe de l'écoulement 1, de hauteur p (profondeur d'eau), de largeur 1 m et d'épaisseur dl (en m). La tranche d'eau sera supposée se déplacer avec une vitesse uniforme dl/dt et rester donc au-dessus de la surface de sédiment ds ($ds = dl * 1$ m) pendant le temps dt.

A $t = 0$, la concentration en NO_3^- de la tranche d'eau est appelée C (mg/l)

A $t = dt$, la concentration en NO_3^- de la tranche d'eau est C + dC (mg/l)

Tableau 5. Evolution du ratio formes azotées/azote total dans les enceintes exprimé en % par heure.

Table. 5. Evolution of the ratio nitrogen compounds/total nitrogen in benthic chambers (in %·h⁻¹).

Nersac (en %/h)	7/1991	8/1991	9/1991	10/1991	11/1991
$\Delta N(\text{NO}_3 + \text{NO}_2 + \text{NH}_4)/Nt^*$	-3,03	-0,36	-0,56	-1,14	-1,49
ΔN organique/Nt	0	-4,59	0	-0,9	-1,72
ΔN -N2O calculé/Nt	3,02	4,95	0,56	2,04	3,21
ΔN -N2O mesuré/Nt	1,15	0,73	0,66	0,56	0,75
Juac (en %/h)					
$\Delta N(\text{NO}_3 + \text{NO}_2 + \text{NH}_4)/Nt^*$	0,21	4,08	-0,03	-0,39	0,58
ΔN organique/Nt	-2,34	1,79	-1,32	-2,98	-0,28
ΔN -N2O calculé/Nt	2,12	-5,87	1,35	3,37	-0,3
ΔN -N2O mesuré/Nt	0,62	0,41	0,42	0,25	0,13

*Nt = Norga + N-NH₄⁺ + N-NO₂⁻ + N-NO₃⁻ + N-N2O

Pendant le temps dt , la surface de sédiment ds assure une dénitrification à vitesse constante K (mg de $\text{NO}_3^-/\text{m}^2/\text{j}$). La quantité de NO_3^- dénitrifiée D dans la tranche d'eau est :

$$D = K \cdot dS \cdot dt \text{ c'est-à-dire } D = K \cdot dl \cdot l \cdot dt \quad (1)$$

avec K en $\text{mg}/\text{m}^2/\text{j}$, dl en m , l en m et dt en j .

D'autre part, la quantité de NO_3^- disparue dans la tranche d'eau peut aussi être exprimée en fonction des concentrations à $t = 0$ et $t = dt$:

$$D = [(C \cdot p \cdot l \cdot dl) - ((C + dC) \cdot p \cdot l \cdot dl)] \cdot 1000$$

soit $D = -dC \cdot p \cdot l \cdot 1000$ (2)

avec dC en mg/l , dl , p et l en m .

L'égalité des termes (1) et (2) conduit à :

$$-dC \cdot p \cdot 1000 = K \cdot dt$$

soit : $dC/dt = -K/1000 \cdot p$ avec dC/dt en $\text{mg}/\text{l}/\text{j}$, K en $\text{mg}/\text{m}^2/\text{j}$ et p en m .

Les valeurs mentionnées dans le tableau 6 représentent des moyennes sur la durée de l'expérience avec indication des écarts mini-maxi. Sur un cycle annuel et dans les limites des conditions environnementales mentionnées, il en ressort que le taux moyen de dénitrification dans la rivière Charente est de :

28,44 mg de $\text{NO}_2^-/\text{m}^2/\text{h}$ soit un facteur K égal à 682 mg de NO_3^-/j ou encore 2,5 t/ha/an.

En prenant, pour le modèle, les valeurs références suivantes : $K = 682 \text{ mg } \text{NO}_3^-/\text{m}^2/\text{j}$ et $p = 3 \text{ m}$, on arrive à :

$$dC/dt = -0,23 \text{ mg}/\text{l}/\text{j}$$

Le facteur K (154 mg de $\text{N}/\text{m}^2/\text{j}$) s'insère dans la gamme de valeurs citées dans la littérature en ce qui concerne les études réalisées en rivière avec la méthode d'inhibition à l'acétylène (Tableau 7).

Tableau 6. Valeurs moyennes des principaux paramètres de la dénitrification.

Table 6. Average values of main denitrification parameters.

	O2 mg/l	Température °C	NO3 mg/l	NO3 dénitrifié mg/m2/h = Facteur K
NERSAC	6.0 (0.2-11.5)	16.4 (9.5-22.3)	12.8 (5.7-19.9)	24.31 (15-41)
JUAC	7.2 (4.3-10.7)	17.1 (9.8-23.2)	16.5 (5.8-23.4)	32.56 (5-103)
Ensemble	6.6	16.8	14.7	28.44

4. Conclusion

La comparaison de l'estimation du taux de dénitrification par dosage direct (méthode à l'acétylène) à celle fournie par l'analyse des formes de l'azote (défaut de bilan) montre la difficulté d'utiliser un déficit de bilan, méthode qui est donc à exclure. En moyenne, 0,6 % (SD $\pm 0,3$) de l'azote total de nos enceintes est dénitrifié par heure, alors que le calcul théorique estime ce pourcentage à 1,4 (SD ± 3).

Cette assez bonne concordance ne semble imputable qu'au hasard. En effet, la première estimation s'accompagne d'un coefficient de variation de 51 %. Par la méthode des bilans, il y a extrapolation des données non mesurées et l'estimation, dans ce cas, s'assortit d'un coefficient de variation bien plus élevé (206 %).

D'autre part, la méthode des bilans azotés ne prend en compte que les variations dans l'eau des

Tableau 7. Quelques valeurs de taux de dénitrification citées dans la littérature (d'après Seitzinger 1988 et Knowles 1982).
Table 7. Some denitrification rates in the literature.

Localisation	Taux (mg N.m ⁻² .j ⁻¹)	Référence
Rivières		
San Francisquito Creek, Californie	18	Duff et al, 1984
Little Lost Man Creek	0	Duff et al, 1984
Seine, France	240	Chestérnikoff et al., 1990
Lacs		
Hampen, Danemark	1,6-16,8	Christensen et Sorensen, 1986
lac modérément eutrophe		
Okeechobee	0,7-8,4	Messer et Brezonik, 1983
Lacs d'eau douce		
Canada, mésotrophe	2,4-7,2	Chan et al, 1979
Graviers France	0-336	Helmer et Labroue, 1992

cloches. Elle surestime la dénitrification en occultant les interactions de l'interface eau-sédiment où l'assimilation des nitrates concourt à la synthèse d'azote organique.

Par rapport à la méthode des bilans, le dosage direct par blocage à l'acétylène apparaît plus précis tout en conservant encore une approche en « boîte noire » : quel que soit le sens des échanges biochimiques et leur intensité, il quantifie un produit issu d'une activité enzymatique, passage obligé des nitrates vers l'azote moléculaire, et présent uniquement dans l'eau. La disparition vraie d'azote de la tranche d'eau est probablement supérieure à la dénitrification mesurée par la méthode à l'acétylène : en effet, l'acétylène, inhibant la nitrification, peut conduire, par le biais de son rôle sur la concentration en nitrate, à sous-estimer la dénitrification. De plus, les échanges eau-sédiment n'étant sans doute pas totalement réversibles, leur solde peut aboutir à une part de disparition d'azote par diagenèse.

Dans l'exemple de la Charente, il faut enfin souligner l'importance de ce phénomène de dénitrification avec au minimum 2,5 tonnes de nitrates éliminés annuellement par hectare de lit de rivière et sa constance lorsque la matière organique dégradable et les nitrates sont régulièrement apportés par la pollution entrante (effluents urbains et industriels) et bien que les eaux soient toujours suffisamment oxygénées.

L'étude du rôle des macrophytes et du périphyton et l'influence de l'épaisseur de la tranche d'eau au-dessus du sédiment sur la dénitrification permettra d'affiner ce type de mesure in situ.

Travaux cités

- Chan Y.K., Knowles R. 1979. — Measurement of denitrification in two freshwater sediments by an in situ acetylene inhibition method. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37 : 1067-1072.
- Chestérikoff A., Garban B. & Ollivon D. 1990. Origine et dynamique de l'azote en Seine à l'aval de Paris. Comportement des MES, du phosphore et du COP : rôle de la station d'Achères dans cette problématique. *Rapport technique Piren-Seine*, 1/90/03.
- Christensen P.B. & Sorensen J. 1986. — Temporal variation of denitrification activity in plant-covered littoral sediment from lake Hampen, Denmark. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51 : 1174-1179.
- Duff J.H., Triska F.J. & Oremland R.S. 1984. — Denitrification associated with stream periphyton : chamber estimates from undisrupted communities. *J. Environ. Qual.*, 13 : 514-518.
- Fradet E. 1989. — Dénitrification en rivière, relations avec les propriétés physicochimiques de l'eau et des sédiments. D.E.A., Laboratoire Biologie des Sols, Université Claude-Bernard, Lyon, 69 p.
- Gorlenko V.M., Dubinina G.A. & Kuznetsov S.I. 1983. — The ecology of aquatic micro-organisms. W. Ohle Ed. E. Schweizerbart'sche Verlagbuchhandlung (Nägele u. Obermiller), Stuttgart : 252 p.
- Helmer C. & Labroue L. 1992. — Denitrification in gravel-pit lakes. *Hydrobiologia* (sous presse).
- Knowles R. 1982. — Denitrification. *Microbiological Reviews*, 46, 1 : 43-70.
- Labroue L., Tourenq J.N., Mieussens C., Robert J. & Donville B. 1988. — Rôle des lacs de gravières dans la diminution des teneurs en nitrates des aquifères alluviaux de la vallée de la Garonne. Essai de quantification. *Annls Limnol.*, 24 (1) : 31-38.
- Labroue L., Delmas R., Serça D. & Dagnac J. 1991. — La pollution nitratée des nappes phréatiques facteur de pollution atmosphérique. *C.R. Acad. Sc.*, Paris, 313, III, 119-124.
- Ma Z.C. 1991. — Modélisation du transfert des nitrates : du bassin de recherche au grand bassin (exemples des bassins de Mélarchez et de la Charente). Thèse de 3^e cycle. Cemagref (groupement d'Antony. Division Hydrologie)/ENTRSTS., Université Louis Pasteur, Strasbourg : 183 p + annexes.
- Messer J. & Brezonik P.L. 1983. — Comparison of denitrification rate estimation techniques in a large, shallow lake. *Wat. Res.*, 17 : 631-640.
- Painter H.A. 1977. — Microbial transformations of inorganic nitrogen. *Prog. Wat. Tech.*, 8, 4/5 : 3-29.
- Randall M.J. & Ingraham J.L. 1986. — The denitrifying prokaryotes. In M.P. Starr Stolp, H., Trüper, H.G., Balows, A. Schlegel, H.G., *The prokaryotes : a handbook on habitats, isolation, and identification of bacteria.*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1 : 913-925.
- Seitzinger S.P. 1988. — Denitrification in freshwater and coastal marine ecosystems : ecological and geochemical significance. *Limnol. Oceanogr.* 33 (4/2) : 702-724.
- Tiedje J.M., Sextstone A.J., Myrold D.D. & Robinson J.A. 1982. — Denitrification : ecological niches, competition and survival. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 48 : 569-583.
- Tiedje J.M. 1988. — Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In « *Biology of anaerobic microorganisms* ». A.J.B. Zehnder Ed. Wiley-Liss-New York : 179-244.
- Toms I.P. 1975. — Factors affecting the removal of nitrate by sediments from rivers, lagoons and lakes Technical Report. Water Research Centre, 14 : 23 p.
- Whitehead P. & O'Connell. 1984. — Water quality modelling, forecasting and control. Proceedings of an international workshop at the Institute of Hydrology, Wallingford : Report 88.